

Rec'd PCT/PTC 14 OCT 2004 #2
PCT/JP03/04844

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE
16.04.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2002年 4月17日

出願番号

Application Number:

特願2002-114781

[ST.10/C]:

[JP2002-114781]

出願人

Applicant(s):

山之内製薬株式会社

REC'D 13 JUN 2003

WIPO

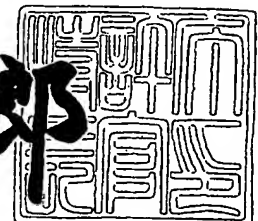
PCT

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 5月27日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特2003-3038842

BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願

【整理番号】 0000003133

【提出日】 平成14年 4月17日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C07D501/59 AAH

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市御幸が丘21 山之内製薬株式会社内

【氏名】 湯田 真道

【発明者】

【住所又は居所】 東京都板橋区蓮根3-17-1 山之内製薬株式会社内

【氏名】 小日向 武

【特許出願人】

【識別番号】 000006677

【氏名又は名称】 山之内製薬株式会社

【代理人】

【識別番号】 100089200

【弁理士】

【氏名又は名称】 長井 省三

【電話番号】 03-5916-5530

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 005348

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【物件名】 図面 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】明細書

【発明の名称】 キノキサリンジオン誘導体無水物の新規結晶

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 [2, 3-ジオキソー 7-(1H-イミダゾール-1-イル)-6-ニトロ-1, 2, 3, 4-テトラヒドロキノキサリン-1-イル] 酢酸（以下化合物 A という）フリー体無水物の α 結晶。

【請求項 2】 Cu-K α 線を使用して得られる粉末 X 線回折図において、回折角 9.1°、19.4°、22.5°、23.3°、23.9°、25.7°、26.2° にピークを認める請求項 1 記載の α 結晶。

【請求項 3】 請求項 1 または 2 記載の化合物 A フリー体無水物の α 結晶を有効成分として含有する AMPA 受容体拮抗剤。

【請求項 4】 脳梗塞治療剤である請求項 3 記載の医薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、湿度に対し優れた安定性を有する新規な [2, 3-ジオキソー 7-(1H-イミダゾール-1-イル)-6-ニトロ-1, 2, 3, 4-テトラヒドロキノキサリン-1-イル] 酢酸（以下、化合物 A という）フリー体無水物の α 結晶（以下、化合物（I）という）、該化合物（I）を有効成分とする AMPA 受容体拮抗剤、特に脳梗塞治療剤に関する。

【0002】

【従来技術】

化合物 A、その互変異性体、その塩、その水和物またはその溶媒和物は、AMPA 受容体に対して高い親和性を有しており、強いカイニン酸神経細胞毒性阻害作用および DBA/2 マウスにおける聴原性けいれん抑制作用を示し、これらの作用に基づきハンチングトン舞蹈病、パーキンソン氏病、癲癇、アルツハイマー病、老人性痴呆症の予防又は治療の為の向精神薬として、又は脳虚血、酸素欠乏、一時的な心停止時の細胞死、低血糖および痙攣後の神経変性あるいは精神および運動機能不全症等の予防又は治療の為の抗虚血薬として特に有用であり、溶解度も

優れていることが報告されている（特許第2865878号）。

該文献には、一連のテトラヒドロキノキサリンジオン誘導体は、結晶多形を形成することができることの一般的事項が記載されており〔前記特許公報第（5）頁右欄第16～19行〕、またその実施例1によれば化合物A・1塩酸塩・1.2水和物の結晶を得たこと、その結晶の元素分析値によれば該結晶が1.2モルの水分を有すること〔同第（9）頁右欄下から第21行～同第（10）頁右欄第5行、特に同第（10）頁左欄第39～50行〕、その実施例23によれば化合物A・1塩酸塩・1水和物の結晶を得たこと〔同第（18）頁右欄第27行～同第（19）頁右欄第25行、特に同第（19）頁左欄第16～25行〕、さらにその実施例24によれば化合物Aの結晶を得たこと、その結晶の元素分析値によれば該結晶が0.2モルの水分を有すること〔同第（19）頁左欄第26行～41行、特に同第30～41行〕が、それぞれ記載されている。

また、化合物Aの1水和物は、水溶性が高く、局所脳虚血モデルに於いて優れた脳梗塞体積の縮小効果を示すことが報告されている（Society for Neuroscience Abstracts 22, Part 2, 604.2, 1996, The Japanese Journal of Pharmacology 76 Suppl. I, P-362, P-369, P-372, 1998）

しかしながら、該文献には化合物Aのフリー体には、無水物が存在すること、フリー体無水物には α および β 型の2種の結晶多形が存在すること、その β 型結晶は湿度に対して不安定な結晶であること、 α 型の結晶のみが湿度に対して安定で非経口投与用製剤に供しうる医薬原体として優れていることについて、何ら開示がない。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

このような技術水準下、本発明者らは、前記公報の実施例23につき検討した結果、実施例23の製法によれば通常化合物Aのフリー体はその1水和物として得られること、その1水和物が優れたAMPA受容体拮抗作用と水溶性を有するものであること、しかしながら該1水和物のその安定な保存には冷蔵保存が必要であることを知見した。

従って、本発明の目的とするところは、薬理学的活性、製剤学的性質において

優れた化合物 A の医薬品製造原体として供しうる安定な結晶を提供することである。

【0004】

【課題を解決するための手段】

かかる状況下、本発明者らは化合物 A の医薬品原体として供しうる安定な結晶につきさらに鋭意検討した結果、化合物 A のフリー体には無水物が存在すること、そのフリー体の無水物には α 型（化合物（I））及び β 型（化合物（II））の二種類の結晶多形が存在すること、その β 結晶は湿度に対して不安定で到底医薬品原体として供することができないものであることを見出した。湿度に対しても安定な結晶につきさらに検討を進めた結果、前記化合物（I）が湿度に対しても優れた安定性を有すること見だし、本発明を完成させるに至ったものである。

即ち、[2, 3-ジオキソ-7-(1H-イミダゾール-1-イル)-6-ニトロ-1, 2, 3, 4-テトラヒドロキノキサリン-1-イル] 酢酸（以下化合物 A という）フリー体無水物の α 結晶。

好ましくは、Cu-K α 線を使用して得られる粉末 X 線回折図において、回折角 9.1° 、 19.4° 、 22.5° 、 23.3° 、 23.9° 、 25.7° 、 26.2° にピークを認める前記の α 結晶。

更に本発明の別の態様として、前記化合物 A フリー体無水物の α 結晶を有効成分として含有する AMPA 受容体拮抗剤、好ましくは脳梗塞治療剤である医薬に関する。

【0005】

【発明の実施の形態】

本発明について更に説明すると、次の通りである。

本発明の化合物（I）、即ち [2, 3-ジオキソ-7-(1H-イミダゾール-1-イル)-6-ニトロ-1, 2, 3, 4-テトラヒドロキノキサリン-1-イル] 酢酸フリー体無水物の α 結晶は、好ましくは、Cu-K α 線を使用した粉末 X 線回折図において、回折角 9.1° 、 19.4° 、 22.5° 、 23.3° 、 23.9° 、 25.7° 、 26.2° にピークを認める化合物である。

なお、回折角は、通例 $2\theta \pm 0.2^\circ$ の範囲で一致するものを意味する。また、ピークとは主要なピークを意味し、これらの回折角以外に中程度以下のピークを認めるものも含まれる。

より好ましくは、図 1 に示す粉末 X 線回折図と同一の回折角のところに回折ピークを認める化合物である。

更に好ましくは、図 1 に示す粉末 X 線回折図と同一の回折角のところに回折ピークを認め、同一の相対強度を有する化合物である。

もっとも好ましくは、図 1 に示す粉末 X 線回折図と同一の回折角のところに回折ピークを認め、熱分析 (T G - D S C) は、 341°C 付近で発熱を伴いながら分解することを示す化合物である。

ここで、粉末 X 線回折はデータの性質上、結晶の同一性認定においては、結晶格子間隔や全体的なパターンが重要であり、相対強度は結晶成長の方向、粒子の大きさ、測定条件によって多少変わりうるものであるから、厳密に解されるべきではない。

本発明の化合物 (I) は、例えば、化合物 A 一水和物を温水に添加し、遮光条件下で攪拌し、得られた結晶を濾過し、乾燥することにより製造することが出来る。

原料として使用される化合物 A 一水和物は、上記文献に記載の製造法、或いは、特開平 12 年 281676 号公報記載の製法により製造することが出来る。

【 0 0 0 6 】

本発明の化合物 (I) は、脳梗塞治療剤、好ましくは脳梗塞急性期治療剤として有用である。

脳梗塞治療とは、脳梗塞急性期における梗塞巣の進展防止効果、脳梗塞に伴う機能不全或いは自覚症状を改善する効果、及び／又は慢性期の精神症状やけいれん発作の発現の抑制を意味する。更に、脳梗塞発作の再発予防も含まれる。

脳梗塞急性期とは、発症後 4 8 時間以内をいう。

また、投与前の C T 所見により、脳梗塞の程度は、梗塞巣の大きさ、梗塞巣の広がり (穿通枝、皮質枝)、梗塞側 (左、右、両側)、梗塞領域 (前大脳動脈領域、中大脳動脈領域、後大脳動脈領域、分水嶺領域、脳幹、小脳、その他) 及び

浮腫の程度によって分類できる。

脳梗塞に伴う機能不全とは、脳梗塞急性期に発現する神経症候、日常生活動作障害、運動麻痺等を意味する。

これらの症状は、神経学的チェック（意識レベルの評価、瞳孔対称性と光反応、運動失調、間代性筋収縮等の症状）や、modified Rankin Scale, Barthel Index, NIHSS, 及び Glasgow Scale を用いた神経機能と障害の程度の指標によって表すことができる。

具体的には、下記の項目の臨床症状を観察し、数値化する。

意識障害

自覚症状（頭痛・頭重感、めまい、四肢のしびれ感等）

精神症候（呼名・挨拶への反応、見当識、意欲、知識、計算力、声の調子、態度、自発動作、自発発語、注意等）

神経症候（失語、失行、失認、構音障害、嚥下障害、運動麻痺側の筋力、感覚障害等）

日常動作障害（寝返り、坐位保持、起立、歩行、着脱衣、食事、排尿・排便等）

神経症状とは、上記神経症候に挙げられた1つ又は2つ以上の項目について障害が認められる状態をいう。

慢性期の精神症状とは、脳梗塞発症後3週間以降に発現する精神症状を意味し、具体的には自発性低下（意欲低下）、記憶障害、不安感、うつ状態、不機嫌、焦燥感、妄想、感情易刺激性、攻撃的行為、精神興奮、徘徊、せん妄等の症状である。

【0007】

本発明の化合物（I）は、主に非経口投与、具体的には、皮下投与、筋肉内投与、静脈内投与、経皮投与、髄腔内投与、硬膜外、関節内、及び局所投与、あるいは可能であれば経口投与等、種々の投与形態で投与可能である。

非経口投与のための製剤としては、無菌の水性又は非水性の溶液剤、懸濁剤、乳濁剤を包含する。水性の溶液剤、懸濁剤としては、例えば注射用蒸留水及び生理食塩水が含まれる。非水溶性の溶液剤、懸濁剤としては、例えばプロピレンゲ

リコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、エタノールのようなアルコール類、ポリソルベート 8 0（商品名）等がある。このような組成物はさらに防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤（例えば、ラクトース）、溶解補助剤（例えば、メグルミン酸）のような補助剤を含んでいてもよい。これらは例えばバクテリア保留フィルターを通す濾過、殺菌剤の配合又は照射によって無菌化される。また、これらは無菌の固体組成物を製造し、使用前に無菌水又は無菌の注射用溶媒に溶解して使用することもできる。好ましくは凍結乾燥製剤である。

本発明の化合物（I）の投与量は症状、投与対象の年齢、性別等を考慮して個々の場合に応じて適宜決定されるが、通常成人 1 日当り 100～2000mg、好ましくは 1 日当り 900mg 程度である。成人 1 日当り 100～2000mg を、1 回で、あるいは 2～4 回に分けて投与してもよい。静脈内投与や、持続的静脈内投与の場合には、一日当たり 1 時間から 24 時間で投与しても良い。

上記に示すとおり、投与量は種々の状態によって決められる。有効である場合は、上記の範囲よりも少ない投与量を用いることができる。

【0008】

【実施例】

次に、実施例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

実施例 1

1) 化合物 A 無水物の製造

約 50℃ の温水 500mL 中に、化合物 A の一水和物 約 10 g を加え、遮光条件下、パドルで 2 日間攪拌（200rpm）後、吸引濾過し、残渣を 80℃ で 3 日間減圧乾燥して、濃黄色の結晶性の粉末（化合物（I））を得た。また、化合物 A の一水和物を 105℃ で 1 時間乾燥し、淡黄色の結晶性の粉末（化合物（II））を得た。

2) 結晶形の確認

1) で得た調製品について、粉末 X 線回折及び熱分析測定を行った。なお、化

合物 (I I) は、測定直前までシリカゲルデシケーター中に保存し、測定のためのサンプリングも出来るだけ乾燥した条件下で行った。

その結果、以下に示すように、それぞれ、 α 型無水物結晶 (化合物 (I)) 及び β 型無水物結晶 (化合物 (I I)) であることが確認された。

【0009】

(1) α 型無水物結晶 (化合物 (I))

α 型無水物結晶 (化合物 (I)) は濃黄色の結晶性の粉末であり、前記に示すとおり、Cu-K α 線を使用した粉末X線回折図において、回折角 9.1° 、 19.4° 、 22.5° 、 23.3° 、 23.9° 、 25.7° 、 26.2° 付近にピークを認める化合物である。

また、本発明の化合物 (I) の熱分析 (TG-DSC) は、 341°C 付近で発熱を伴いながら分解することを示す。

化合物 (I) の粉末X線回折図を図1に示す。

測定条件：装置；マックサイエンス製 MXP18TAHF22 型粉末X線回折装置 対陰極；Cu 管電圧；40KV 管電流；40mA 走査速度； $3.0^\circ/\text{min}$

また、図2にTG-DSC熱分析結果を示す。

測定条件：TG装置；ティーエイインストルメンツ製 2950 型熱重量装置 試料量；約 8mg 雰囲気ガスの種類；窒素、雰囲気ガスの総流量； $100\text{ ml}/\text{min}$ 昇温速度； $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 、DSC装置；ティーエイインストルメンツ製 2910 型示差走査熱量分析装置 試料量；約 5mg 基準物質；空容器 試料容器；アルミニウム開放 雰囲気ガスの種類；窒素 雰囲気ガスの流量； $50\text{ ml}/\text{min}$ 昇温速度； $10^\circ\text{C}/\text{min}$

【0010】

(2) β 型無水物結晶 (化合物 (I I))

β 型無水物結晶 (化合物 (I I)) は、淡黄色の結晶性の粉末であり、Cu-K α 線を使用した粉末X線回折図において、回折角 10.5° 、 18.8° 、 21.2° 、 23.5° 、 26.7° 、 29.5° 付近にピークを認める化合物である。

また、化合物 (I I) の熱分析 (TG-DSC) は、 320°C 付近で発熱を伴い

ながら分解することが確認された。

図3に化合物(II)の粉末X線スペクトル図を示す。

測定条件：装置；マックサイエンス製 MXP18TAHF22型粉末X線回折装置 対陰極；Cu 管電圧；40KV 管電流；40mA 走査速度；3.0°/min

また、図4にTG-DSC熱重量分析結果を示す。

測定条件：TG装置；ティーエイインストルメント製 2950型熱重量装置 試料量；約7mg 雰囲気ガスの種類；窒素、雰囲気ガスの総流量100ml/min 昇温速度；10°C/min、DSC装置；ティーエイインストルメント製 2910型示差走査熱量分析装置 試料量；約6mg 基準物質；空容器 試料容器；アルミニウム開放 雰囲気ガスの種類；窒素 雰囲気ガスの流量；50ml/min 昇温速度；10°C/min

3) 吸湿性試験

化合物A無水物の各結晶形約1gを質量既知の秤量瓶(7個)に秤取し、正確に質量を求めた後、25°Cで以下の条件に保存し、経時的に質量変化を測定した。

【0011】

【表1】

塩類飽和溶液	%RH
(1)塩化マグネシウム $MgCl_2 \cdot 6H_2O$	33
(2)硝酸カルシウム $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	51
(3)硝酸アンモニウム NH_4NO_3	63.5
(4)塩化ナトリウム $NaCl$	75
(5)塩化カリウム KCl	84
(6)硝酸カリウム KNO_3	93
乾燥剤	%RH
(7)シリカゲル	~0%RH

その結果、表2に示すように、化合物(I)については、何れの相対湿度条件下でもほとんど吸湿性を示さず安定であった。一方、化合物(II)については、吸湿性が強く、少なくとも33%RH条件以上において、1日で、1モル相当

の水を吸湿することが判明した。

【0012】

【表2】

表A 化合物（I）の経時的質量変化

	Day			
	1	2	4	7
~0%RH	0.03	-0.01	0.02	0.01
33%RH	0.09	0.06	0.10	0.08
51%RH	0.03	0.04	0.10	0.09
63.5%RH	0.03	0.06	0.10	0.11
75%RH	0.04	0.07	0.13	0.10
84%RH	0.05	0.09	0.11	0.13
93%RH	0.09	0.10	0.15	0.13

表B 化合物（II）の経時的質量変化

	Day			
	1	2	4	7
~0%RH	0.09	0.08	0.07	0.04
33%RH	5.26	5.29	5.32	5.33
51%RH	5.39	5.39	5.40	5.38
63.5%RH	5.47	5.47	5.49	5.49
75%RH	5.47	5.47	5.51	5.46
84%RH	5.51	5.52	5.52	5.51
93%RH	5.52	5.49	5.54	5.51

【0013】

実施例2（凍結乾燥製剤の製造）

メグルミン33.3gを注射用水400mlに溶解させ、これに化合物（I）10gを加えて攪拌溶解させた。この液に、注射用水1400mlを加え、更にマンニトール40gを溶解させた後、注射用水を加えて2000mlとした。この液を常法により除菌ろ過した後、30ml容量のバイアルに15ml充填し、常法により凍結乾燥して本発明に用いられる化合物（I）の凍結乾燥製剤を得た。

【0014】

実験例

本発明化合物の薬理効果はつぎの様にして確認できる。

1) [^3H] -AMPA結合阻害活性の測定:

約45nMの [^3H] -AMPA [2-アミノ-3-(3-ヒドロキシ-5-メチル-4-イソキサゾール)プロピオニックアシッド] と約300mgのラット大脳膜標本および試験化合物を含有した全量0.5mlの反応液を氷水中で45分間反応させる。AMPA受容体へ結合した [^3H] -AMPA量の測定は濾過法で行う。特異的結合量は全結合量のうち10・Mキスカル酸によって置換された部分とする。試験化合物の評価は、特異的結合に及ぼす結合阻害率を求める。

2) カイニン酸神経細胞毒性阻害活性の測定:

本発明化合物のカイニン酸神経細胞毒性に対する阻害作用をラット胎児海馬神経細胞初代培養形を用いて検討する。

①培養条件

胎生18-20日目のラット脳より海馬を切り出し、パパインとDNaseIで酵素処理し、細胞を分散する。10%血清を含むMEMにて細胞を浮遊し、予めpoly-I-lysineで処理した48wellのプレート上に4ラ10⁵cell/cm²の濃度で播種し、24時間後無血清培地に交換する。培地交換は、2回/週の割合で行う。6日以上培養した細胞を以下の実験に供する。

②カイニン酸神経細胞毒性阻害

神経細胞毒性は、細胞死により培養液中に遊離される乳酸脱水素酵素の活性値で表す。300・Mのカイニン酸を含む無血清培地に24時間曝露したものを対照として、各化合物をそれぞれ300・Mのカイニン酸と同時に24時間神経細胞に作用させ、カイニン酸による神経細胞死に対する各化合物の阻害作用を評価する。

3) 脳梗塞抑制作用 (MCA永久閉塞モデル)

既報 (J. Pharmacol. Exp. Thr. 276, 84-92, 1996) に従い、Fischer-344系ラットの左MCAを永久閉塞し、その5分後より化合物を無麻酔・無拘束下で24時間静脈内持続投与した。投与終了後断頭、脳を摘出し、2,3,5-triphenyltetrazolium hydrochloride (TTC)染色を施し、梗塞体積を測定する。

【0015】

【発明の効果】

本発明によれば、物理化学的に安定な新規な結晶形である化合物 (I) が提供

される。本発明の化合物（I）は、高温条件下でも安定な医薬品の製造原体として有用である。

【0016】

【図面の簡単な説明】

【図1】化合物（I）の粉末X線回折図

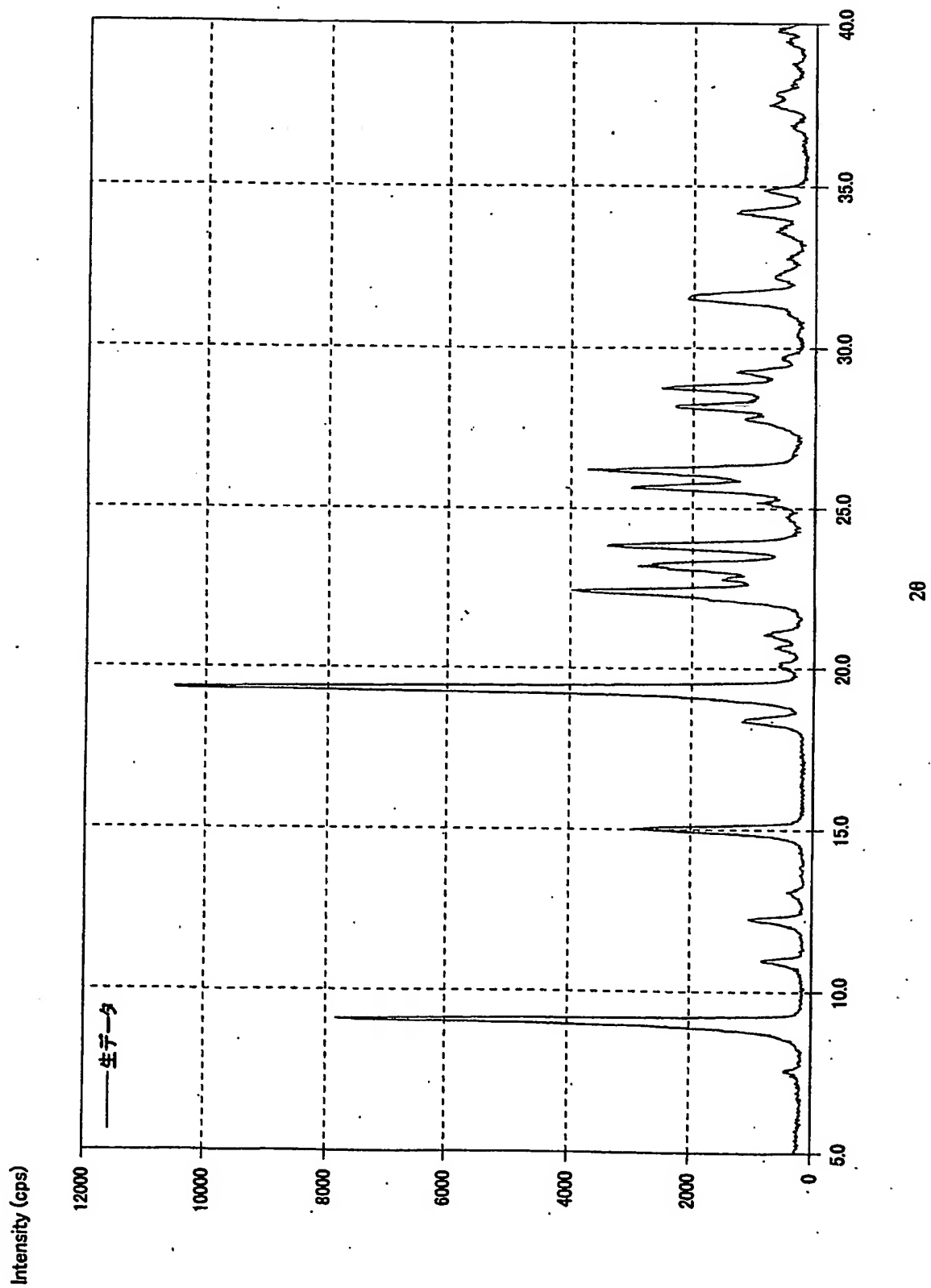
【図2】化合物（I）のTG-DSC曲線

【図3】化合物（II）の粉末X線回折図

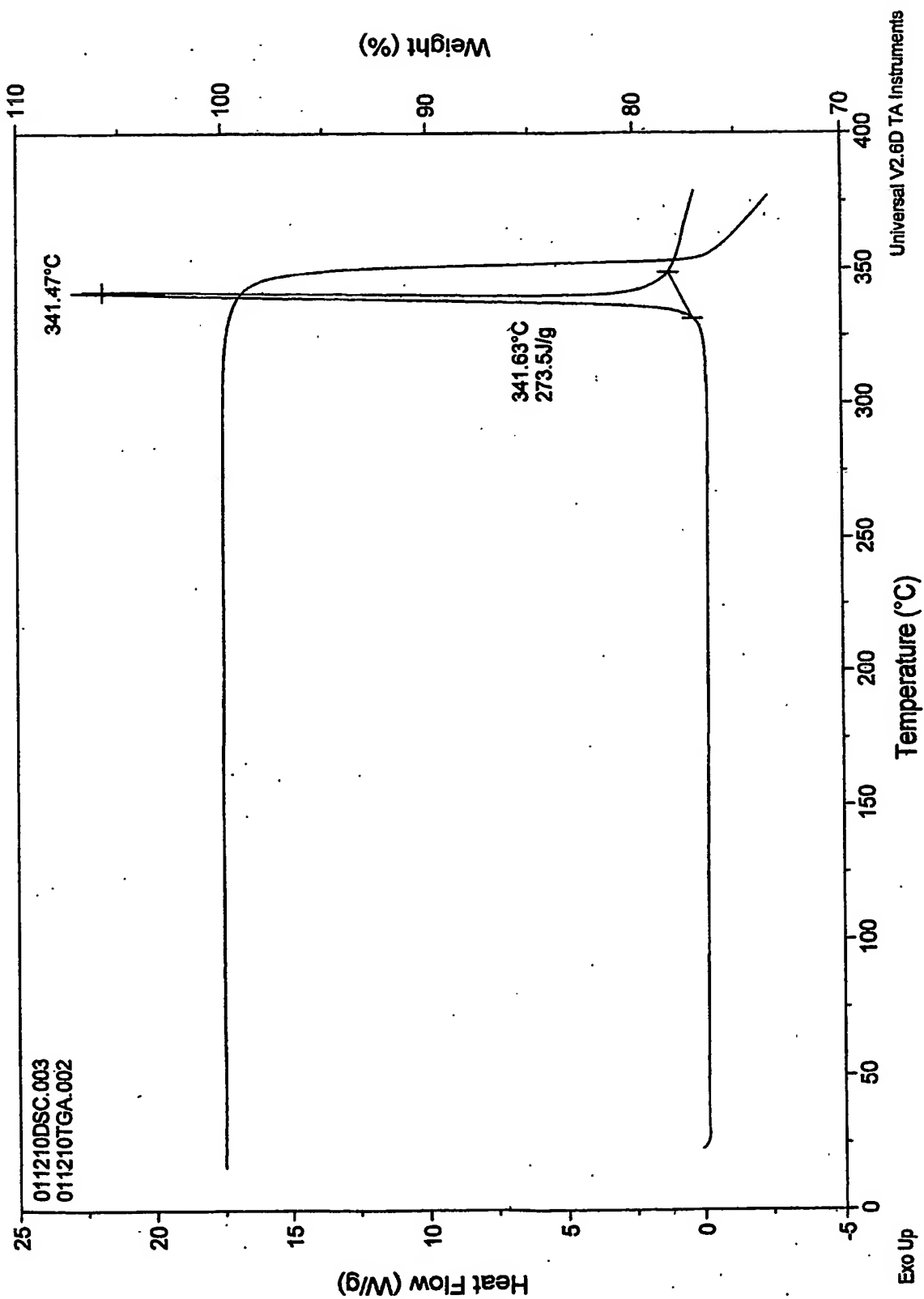
【図4】化合物（II）のTG-DSC曲線

【書類名】 図面

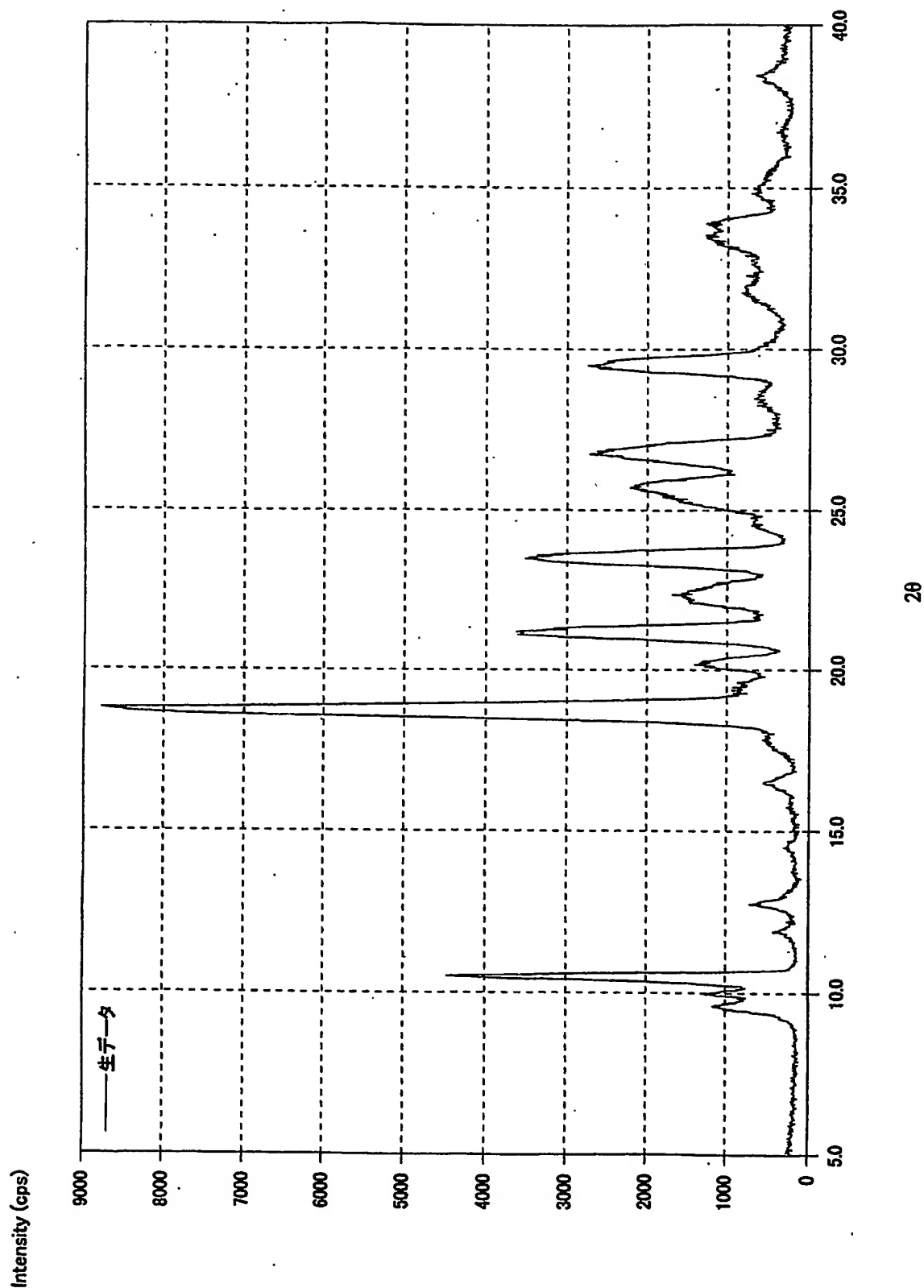
【図 1】



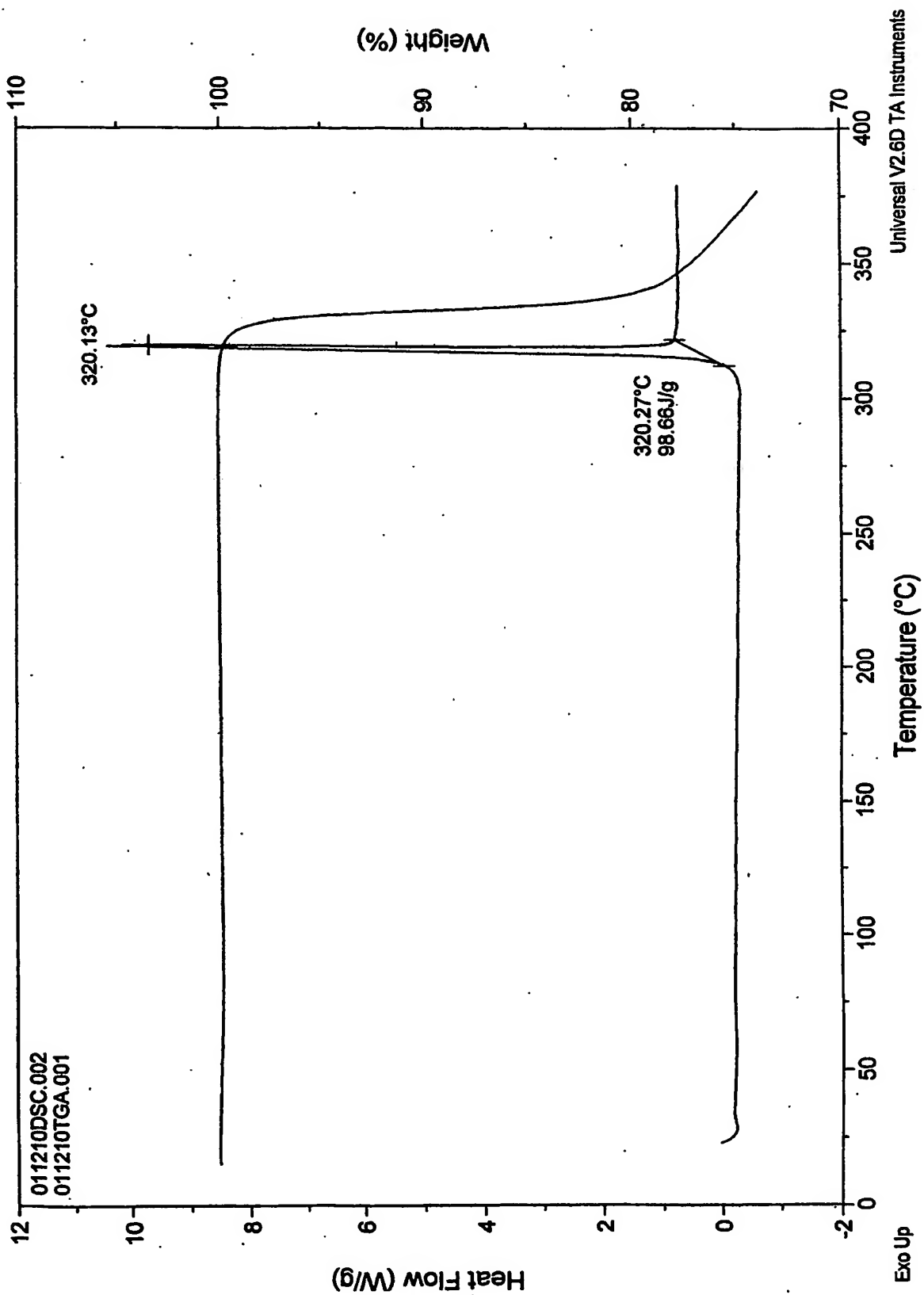
【図 2】



【図 3】



【図4】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 本発明の目的はAMPA拮抗剤であるキノキサリンジオン誘導体の新規な結晶に関する。

【解決手段】 本発明により、高温条件でも安定な医薬品の製造原料が提供できる。

【選択図】 なし

出願人履歴情報

識別番号

[000006677]

1. 変更年月日 1990年 8月10日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都中央区日本橋本町2丁目3番11号

氏 名 山之内製薬株式会社

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.